DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.05.030

大鼠肺组织中 α_1 和 β 受体的检定

孙耕耘 毛宝龄 吕宝璋* （第三军医大学新桥医院呼吸中心）630037

本实验用放射性配基结合分析法，测定大鼠肺组织细胞膜中 α_1 和 β 肾上腺素能受体（简称 α_1 和 β 受体）。

1 材料与方法

1.1 试剂

^{3}H-哌唑嗪（^{3}H-PZ，比放射性 0.7TBq/mmol）和 ^{3}H-双氢烯丙洛尔（^{3}H-DHA，比放射性 2.6TBq/mmol）均为英国 Amersham 产品；2,5-二苯基恶唑（PPO）和普萘洛尔为 Sigma 产品；酚妥拉明（瑞士 Ciba－Geigy 公司）。

1.2 肺组织细胞膜的制备

雄性 Wistar 大鼠，体重 180～230g。取其肺组织置冰冷 Tris－HCL（50mmol/L，pH 7.45，含 10mmol/L $MgCl_2$）液中匀浆，然后以 400×g 离心 10min，取上清液行低温高速离心（35 000×g·20min）。取沉淀匀浆后制成膜制剂，调配其蛋白浓度在 2mg/ml 左右。

1.3 放射性配基结合分析

1.3.1 结合饱和实验：取 200μl 膜制剂与浓度递增的 ^{3}H-PZ（0.8～4.8nmol/L）在 37℃水浴反应 10min 后，迅速经负压抽滤。滤膜烘干后置含 0.5%PPO 的甲苯中，以 LKB-1217 液闪计数仪测放射性。根据 Scatchard 公式求得 α_1 受体的最大结合容量（Bmax）和平衡解离常数（K_D）。β 受体检测与上述相似。即膜制剂 100μl 与最终浓度为（0.4～2.4nmol/L）的 ^{3}H-DHA 在 37℃水浴中反应 5min 后抽滤。其余操作同前。

1.3.2 动力学研究：膜制剂 200μl 与终浓度为 2.4nmol/L 的 ^{3}H-PZ 混合或膜制剂 100μl 与终浓度为 1.6nmol/L 的 ^{3}H-DHA 混合，在 37℃水浴中作不同时间孵育，以观察 α_1 和 β 受体的结合反应动力学。当反应达到平衡时，加入过量的非标记配基酚妥拉明或普萘洛尔，同样在 37℃水浴中反应不同时间，以了解 α_1 和 β 受体的解离动力学。

1.3.3 结合竞争实验：膜制剂 200μl 与终浓度为 2.4nmol/L 的 ^{3}H-PZ 混合，加不同浓度的酚妥拉明或山莨菪碱，置 37℃水浴中反应 10min；膜制剂 100μl 与终浓度为 1.2nmol/L 的 ^{3}H-DHA 混合，加不同浓度的普萘洛尔或异丙肾上腺素，在 37℃水浴中反应 5min。按常法操作并测放射性。根据对数－logit 法求出非标记配基的 IC_{50} 值。

2 结果

2.1 结合饱和实验

图 1 显示，正常大鼠肺组织细胞膜制剂与 ^{3}H-PZ 的结合，随着后者浓度的增高而渐趋饱和，至 4.0nmol/L 时达到平衡。求得 α_1 受体的 Bmax 为 195±12fmol/mg 蛋白和 K_D 为 2.52±0.91nmol/L（11 只大鼠肺的均值）。

膜制剂与 ^{3}H-DHA 的结合也随着后者浓度的递增而趋于饱和，至 2.0nmol/L 时达到平衡（图 2）。求得 β 受体的 Bmax 值为 799±96fmol/mg 蛋白，K_D 为 9.16±2.40nmol/L（10 只大鼠肺的均值）。

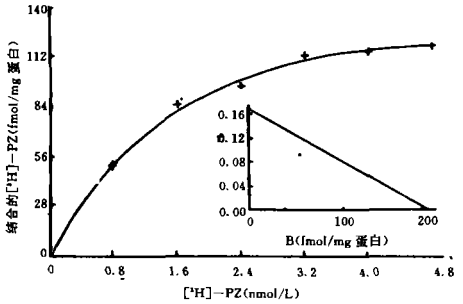


图1 正常大鼠肺组织细胞膜中 α_1 受体与 ^{3}H-PZ 结合的饱和曲线和 Scatchard 图

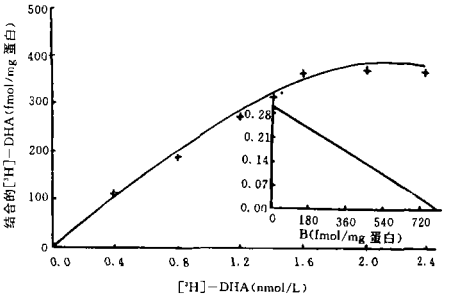


图2 正常大鼠肺组织细胞膜中 β 受体与 ^{3}H-DHA 结合的饱和曲线和 Scatchard 图

* 军事医学科学院基础所

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2 动力学研究

图3表明，膜制剂与^{3}H-PZ 共同孵育，达半数最大结合量的时间约2min，在8min 时达到平衡；加入过量酚妥拉明后，解离半量受体—配基复合物所需时间为2.5min(图4)，说明缔合和解离均是可逆的。

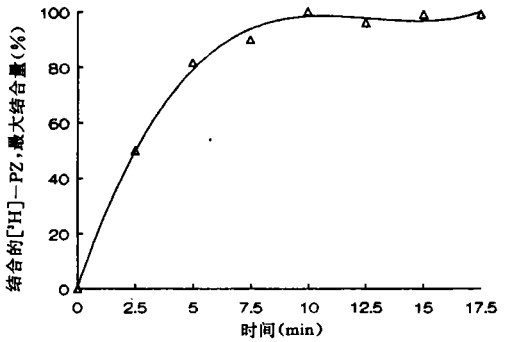


图3 肺组织细胞膜与^{3}H-PZ 结合动力学

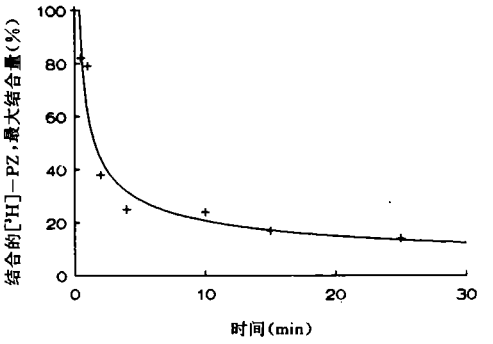


图4 肺组织细胞膜与^{3}H-PZ 解离动力学

β受体的动力学研究表明，达半数最大结合量的时间约1.5min，在5min 时达到平衡；加入过量普萘洛尔后，解离半量受体—配基复合物所需时间约2.0min(图5，图6)。

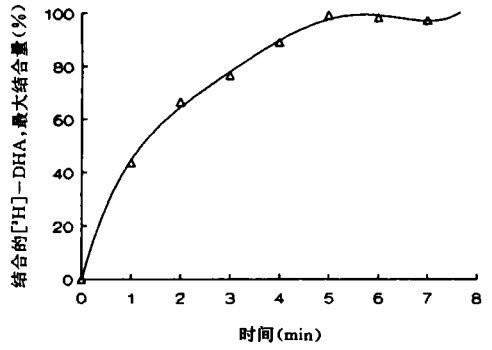


图5 肺组织细胞膜与^{3}H-DHA 结合动力学

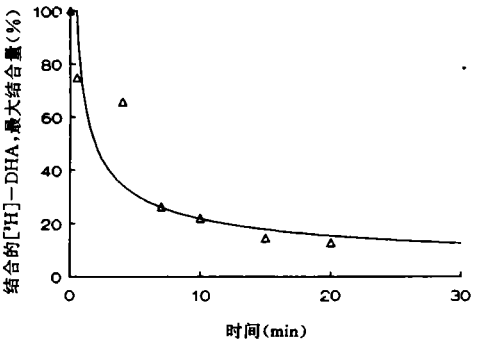


图6 肺组织细胞膜与^{3}H-DHA 解离动力学

2.3 结合竞争实验

酚妥拉明和山莨菪碱对正常大鼠肺脏 α_1受体与^{3}H-PZ 的结合具有竞争性抑制作用，其 IC_{50}值分别为20.5±4.8nmol/L 和67.1±3.8μmol/L。(±)异丙肾上腺素和(±)普萘洛尔对β受体与^{3}H-DHA 的结合具有竞争性抑制作用，其 IC_{50}值分别为38.3±8.8nmol/L 和0.51±0.45nmol/L。

3 讨论

一般认为，受体与配基的结合应具有可饱和性、可逆性、高亲和力等基本特征[1,2]。欲鉴定组织中存在着某种受体，必需判定是否具备上述特征。

关于定量检测受体的方法，目前仍以放射性配基结合分析最为常用。α_1受体拮抗剂^{3}H-PZ 和β受体拮抗剂^{3}H-DHA 均为特异性标记配基。本实验表明，^{3}H-PZ 或^{3}H-DHA 与肺组织细胞膜制剂的特异结合，分别在4.0nmol/L 和2.0nmol/L 时达到饱和。当加入非标记配基酚妥拉明或普萘洛尔时，各自的受体—配基复合物都能在2.5min 内解离一半，表明了结合的可逆性。二种受体的 K_D 值均在 nmol/L 水平，显示受体与配基的结

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

合呈高亲和力。故可证明，^{3}H-PZ 或^{3}H-DHA与肺组织细胞膜制剂的结合部位就是α_1受体或β受体。

大鼠肺α_1和β受体的Bmax值较大，提示两种受体的含量丰富。此外，大鼠肺β受体的亚型分布与人肺相似，其β_1/β_2值均为1/3[3]。因而大鼠肺是研究肾上腺素能受体的理想组织。

过去，多根据山莨菪碱的药理作用，推测它可拮抗α_1受体。本实验直接证明，山莨菪碱对α_1受体有竞争抑制作用，其IC_{50}值较酚妥拉明低3×10^3倍，表明它是一种弱α_1受体拮抗剂。

关键词 受体，肾上腺素能；肺脏；大鼠

参考文献

1. 吕宝璋 田 英，编著。受体学概论。北京：科学出版社，1991：4～8
2. Schachter M. Recent advances in receptor research. Postgrad Med J，1989；65：613
3. Carstairs JR，Nimmo AJ，Barnes PJ. Autoradiographic visualization of beta－adrenoceptor subtypes in human lung. Am Rev Respir Dis，1985；132：541

（收稿：1992-11-24；修回：1993-07-28）

支气管肺炎患儿血清中几种维生素含量的变化

李华强 姚忠凯 侯淦泉* 覃世文 （第三军医大学大坪医院儿科）630042

随着我国人民生活水平的不断提高，单纯性维生素缺乏症越来越少见。但是，在某些疾病、感染、妊娠等维生素需要量增高时，有可能发生维生素缺乏症。由此，我们对34例支气管肺炎患儿测定了血清中多种维生素含量，以了解肺炎对其含量的变化。

1 对象和方法

1.1 对象

1.1.1 正常对照组：均为健康儿童28例，男13例，女15例，年龄1～6岁，平均3岁4个月。

1.1.2 肺炎组：1990年3月至1991年1月住院符合卫生部颁布小儿肺炎防治方案诊断标准者34例，重症肺炎4例，轻症肺炎30例，男21例，女13例，年龄3个月至8岁，平均3岁2个月。患儿均系市区，营养中等或良好，饮食自备，正常进食，住院期间未用各种维生素制剂。

1.2 方法

患儿住院翌日晨及出院前分别抽静脉血测定维生素A、E、C、B_1、B_2含量。

1.2.1 血清维生素A、E测定：荧光法[1]。

1.2.2 血清维生素C测定：分光光度计法[2]。

1.2.3 血清维生素B_1、B_2测定：荧光法[3]。

1.3 统计处理

显著性t检验，以$\bar{x}\pm s$表示。

2 结果

支气管肺炎患儿血清维生素A、E、C、B_1、B_2含量变化见附表。

附表 支气管肺炎患儿血清维生素含量的改变

组 别	vit A (μmol/L)	vit E (μmol/L)	vit C (μmol/L)	vit B_1 (μmol/L)	vit B_2 (μmol/L)
肺炎组					
极 期	0.62±0.22△△	10.71±3.06△△	44.81±16.42	0.155±0.03	0.22±0.06
恢复期	1.01±0.32*	14.94±5.26*	57.49±18.11*	0.159±0.03	0.24±0.09
对照组	0.95±0.22	17.43±4.01	50.84± 6.97	0.166±0.04	0.24±0.06

△△：极期与对照组比较 $P<0.01$；*：极期与恢复期比较 $P<0.05$。

* 野战外科研究所

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net